

Departement für Nutztiere  
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. U. Braun

Abteilung für Schweinemedizin  
Arbeit unter der Leitung von Dr. FVH X. Sidler

**Infektiös bedingte Fruchtbarkeitsstörungen in schweizerischen  
Schweinezuchtbetrieben am Ende der Postweaning  
Multisystemic Wasting (PMWS)-Epizootie**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der  
Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

**Martin Handke**

Tierarzt  
von Rapperswil SG

genehmigt auf Antrag von

PD Dr. N. Borel, Referentin

PD Dr. F. Janett, Korreferent

Zürich 2012

Departement für Nutztiere  
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. U. Braun

Abteilung für Schweinemedizin  
Arbeit unter der Leitung von Dr. FVH X. Sidler

**Infektiös bedingte Fruchtbarkeitsstörungen in schweizerischen  
Schweinezuchtbetrieben am Ende der Postweaning  
Multisystemic Wasting (PMWS)-Epizootie**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der  
Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

**Martin Handke**

Tierarzt  
von Rapperswil SG

genehmigt auf Antrag von

PD Dr. N. Borel, Referentin

PD Dr. F. Janett, Korreferent

Zürich 2012

## **Inhaltsverzeichnis**

1. Zusammenfassung.....	2
1.2 Summary.....	2
2. Einleitung.....	3
3. Material und Methode.....	5
3.1 Herkunft des Probenmaterials.....	5
3.2 Probenaufbereitung.....	6
3.3 Serologische Untersuchungen.....	7
4. Ergebnisse.....	7
4.1 Viral bedingte Fruchtbarkeitsstörungen.....	9
4.2 Bakteriell bedingte Fruchtbarkeitsstörungen.....	13
5. Diskussion.....	13
6. Literatur.....	16

## **1. Zusammenfassung**

Porzine Circoviren Typ 2 (PCV2) sind in der Lage Fruchtbarkeitsstörungen zu induzieren. Sechs Jahre nach Beginn der Epizootie des Postweaning Multisystemic Wasting Syndroms (PMWS) in der Schweiz wurden 286 Feten von 113 Muttersauen aus 59 Betrieben auf infektiöse Ursachen für Fruchtbarkeitsstörungen mit Aborten, vermehrt mumifizierten oder totgeborenen und lebensschwachen Ferkeln untersucht. Ohne Einbezug von porzinen Entero- und porzinen Teschoviren konnte in 7% der untersuchten Fälle eine virale Ursache nachgewiesen werden. 14% der Fälle wurden anhand von Erregerisolation und histologischen Entzündungsanzeichen einer bakteriellen Infektion zugeordnet. In weiteren 12% konnten histologisch Entzündungsreaktionen ohne plausiblen Erregernachweis gefunden werden. Die ätiologische Ursache blieb in rund 2/3 aller Fälle, auch unter Anwendung moderner diagnostischer Methoden, unklar. PCV2 wurde mittels Immunhistochemie (IHC) nur in 4% der Fälle nachgewiesen und scheint somit in der Schweiz bei Fruchtbarkeitsproblemen eine untergeordnete Rolle zu spielen. Infektionen mit dem porzinen Parvovirus (PPV) sind mit 3% der Fälle deutlich seltener als in früheren Untersuchungen. Auf Enteroviren/Teschovirus wurde nur stichprobenweise untersucht. Allerdings konnte in 5 aus 44 ätiologisch unklaren Fällen (11.3%) Enteroviren/Teschovirus nachgewiesen werden. Unseres Wissens ist das der erste Nachweis von Enteroviren/Teschovirus in Feten in der Schweiz.

### **1.2 Summary**

#### **Infectious related fertility problems in swiss pig breeding farms at the end of the postweaning multisystemic wasting (PMWS)-Epizooty**

Porcine Circovirus type 2 (PCV2) is able to induce fertility disorders. 286 fetuses from 113 sows of 59 farms with increased reproductive disorders which included abortions, mummies, stillborn and weak born piglets were studied six years after the beginning of the epizooty of Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS) in Switzerland. Non including porcine Entero- and porcine

Teschovirus 7% of the cases were caused by viral agents. 14% of the cases were bacterial infections based on histological signs of inflammation and pathogen isolation. 12% further cases showed inflammatory reactions by histology without pathogen identification. The etiology remained unclear in 66% of all cases in spite of modern diagnostic methods. PCV2 was identified in only 4% of cases by immunohistochemistry (IHC). Thus, PCV2 infections are of minor importance in respect to pig reproductive failures in Switzerland. Porcine parvovirus (PPV) infections were found in 3% of the cases and seem to occur infrequently compared to former findings. Hitherto, Enteroviruses/Teschovirus were marginally studied. Interestingly, we detected these viruses in 5 out of 44 etiologically undefined cases (11.3%). To our knowledge this is the first identification of Enteroviruses/Teschovirus in fetal tissue from reproductive failures in Switzerland.

## **2. Einleitung**

Fruchtbarkeitsstörungen beim Schwein beinhalten verschiedene pathophysiologische Vorgänge und klinische Symptome. Sie können eingeteilt werden in (I) Störungen der Nidation (regelmässiges oder unregelmässiges Umrauschen), (II) frühzeitigen Trächtigkeitsabbruch mit Auswurf aller Feten (Abort) und (III) reduzierte Anzahl lebend geborener Ferkel infolge nicht lebensfähiger Tiere wie Mumien, Totgeburten und lebensschwacher Ferkel (Almond et al., 2006). Die letzte Untersuchung zu infektiös bedingten Fruchtbarkeitsstörungen in schweizerischen Schweinezuchtbetrieben stammt aus den 90er Jahren (Broll et al., 1993). Damals konnte in 38% aller untersuchten Fälle eine ätiologische Diagnose gestellt werden, wobei das porcine Parvovirus (PPV) mit 29% der häufigste infektiöse Erreger war. Bakterien wurden in 8% aller Fälle nachgewiesen und fakultativ pathogene Erreger, wie E. coli und Streptokokken, standen an erster Stelle. In 10% der Fälle gab es entzündliche Veränderungen an inneren Organen, jedoch konnte kein plausibler Erreger isoliert werden. Aus demselben Untersuchungsmaterial konnten in 4% der Fälle zusätzlich Chlamydien in der Leber nachgewiesen werden (Thoma et al., 1997). In einer Datenzusammenstellung von 943 untersuchten Schweinefeten aus der Schweiz von 1988-1999 war PPV mit 15% ebenfalls der am häufigsten nachgewiesene Erreger gefolgt von Bakterien (E.

coli, Streptokokken und Mischinfektionen). In einem Fall wurden Leptospiren nachgewiesen (Pospischil et al., 2002). In 6% der Fälle konnten entzündliche Veränderungen gefunden werden ohne dass ein Erreger isoliert werden konnte. In noch älteren Schweizer Untersuchungen wurde PPV mit 48% (Zanoni et al., 1984) respektive 38% (Brunner et al., 1987) als wichtigste infektiöse Ursache bei Fruchtbarkeitsstörungen gefunden.

In den letzten Jahren hat das Porzine Circovirus Typ 2 (PCV2) im Zusammenhang mit Fruchtbarkeitsstörungen beim Schwein weltweit zu Diskussionen Anlass gegeben. PCV2 Infektionen werden heute für eine ganze Reihe von Krankheiten verantwortlich oder mitverantwortlich gemacht, den sogenannten "Porcine Circovirus Associated Diseases" (PCVAD). Darunter fallen neben dem "Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome" (PMWS), PCV2-assoziierte Pneumonien, Enteritiden, Lymphadenitiden, das "Porcine Dermatitis Nephropathie Syndrom" (PDNS) und auch Fruchtbarkeitsstörungen (Opriessnig et al., 2007). Der erste Fallbericht von PCV2-assoziierten Fruchtbarkeitsstörungen stammte aus Kanada (West et al., 1999). Seither sind weltweit laufend neue Fallberichte dazugekommen, wobei PCV2 als alleiniger Infektionserreger (Brunborg et al., 2007; Josephson und Charbonneau, 2001; Meehan et al., 2001; Mikami et al., 2005; Pittman, 2008), oder als Koinfektion mit PPV, dem Encephalomyocarditis Virus (EMCV) und dem „Porcine Respiratory and Reproductive Syndrome Virus“ (PRRSV) (O'Connor et al., 2001; Pescador et al., 2007; Woods et al., 2009) in Mumien und abortierten Feten, sowie in totgeborenen oder lebensschwachen Ferkeln nachgewiesen werden konnte. PRRSV, das Pseudorabiesvirus (PRV) als Verursacher der Aujeszky'schen Krankheit und die Europäische Schweinepest (ESP) gelten als wichtige Ursachen von Fruchtbarkeitsstörungen beim Schwein (Almond et al., 2006). Die Schweiz ist jedoch bezüglich dieser drei Krankheiten anerkannt frei (Schwermer und Sievi, 2010).

Sowohl porcine Enteroviren (PEV) als auch porcine Teschoviren (PTV) werden als Verursacher von Fruchtbarkeitsstörungen beim Schwein diskutiert (Knowles, 2006). Sie wurden im Zusammenhang mit dem "Stillbirth Mummification Embryonic Death and Infertility Syndrome" (SMEDI-Syndrom) (Dunne et al., 1965) und Abortfällen beim Schwein beschrieben (Bielanski und Raeside, 1977; Kirkbride und McAdaragh, 1978). Die Gruppe der porcinen Teschoviren umfasst

die ehemaligen Serotypen 1-7 (Talfanggruppe) der porcinen Enteroviren (Kaku et al., 2001). Von den bekannten Serotypen gelten nur PTV 1, 3 und 6, sowie PEV 8 als pathogen für Feten (Knowles, 2006).

Die PMWS-Epizootie in der Schweiz begann Ende 2003 (Wiederkehr et al., 2009). Der erste Fall von PCV2 bedingten Fruchtbarkeitsstörungen wurde in einem Abferkelringbetrieb mit vermehrt Mumien und Totgeburten aber erst im Jahr 2008 diagnostiziert (Sydler et al., 2011). Ziel dieser Arbeit war es, sich ein aktuelles Bild über die Ursachen von Fruchtbarkeitsstörungen in schweizerischen Schweinezuchtbetrieben zu verschaffen. Sechs Jahre nach Beginn der schweizerischen PMWS-Epizootie sollte insbesondere die Rolle von PCV2 im Zusammenhang mit Fruchtbarkeitsstörungen genauer untersucht werden.

### **3. Material und Methoden**

#### **3.1 Herkunft des Probenmaterials**

Von Januar bis Oktober 2009 wurden Feten und Plazenten aus Schweinezuchtbetrieben mit Fruchtbarkeitsstörungen gesammelt. Das untersuchte Material stammte aus Betrieben mit vermehrt auftretenden Aborten (frühzeitiger Trächtigkeitsabbruch vor dem 110. Trächtigkeitstag mit gleichzeitigem Auswurf aller Feten) oder einer erhöhten Anzahl an mumifizierten, autolytischen, totgeborenen oder lebensschwachen Ferkeln. Pro Betrieb wurden maximal von drei Muttersauen im gleichen Trächtigkeitsstadium Ferkel und Plazenten untersucht. Bei Problemen in verschiedenen Trächtigkeitsstadien wurden pro Stadium zwei Muttersauen mit Ferkeln untersucht. War es nicht möglich die Plazenta den Feten zuzuordnen, wurde von dieser an drei verschiedenen Stellen Proben für die Untersuchungen entnommen. Pro Muttersau wurden i.d.R. 3 Feten untersucht, wobei, wenn vorhanden, Mumien und ein nicht-autolytischer Fetus einbezogen wurden. Für serologische Untersuchungen wurde den Muttertieren mit Fruchtbarkeitsproblemen aus der Vena jugularis Blut entnommen.

### 3.2 Probenaufbereitung

Die Ferkel wurden gewogen und die Scheitel-Steiss-Länge (SSL) gemessen. Die Gewebe wurden im Rahmen der Routinediagnostik sowohl pathologisch-anatomisch als auch auf Bakterien und Viren untersucht. Zur histologischen Untersuchung wurden Gewebeproben von Herz, Lunge, Leber, Niere, Milz, Mesenteriallymphknoten, Thymus, Gehirn und Plazenta entnommen, in 10%-igem Formalin fixiert, dann in Paraffin eingebettet und zu 2-3 µm dicken Hämatoxylin-Eosin (HE) gefärbten Histologieschnitten weiter verarbeitet. Folgende Spezialfärbungen wurden verwendet: eine modifizierte Gramfärbung (Brown Brenn), Versilberung nach Warthing-Starry (W+S) und Ziehl-Neelsen-Färbung zur Darstellung säurefester Bakterien, Kossa-Färbung zur Darstellung von Kalksalzen und Van Gieson-Färbung zur Darstellung von Kollagenfasern. Plazentaausstriche wurden mittels Köster- und Giménez-Färbung auf Infektionen mit Brucellen und Chlamydien untersucht. Von den Plazenten und den inneren Organen wurde der mesophile, aerobe Keimgehalt auf Columbia-Blutagar mit 5% defibriniertem Schafblut (Oxoid, Pratteln, Schweiz) bestimmt. Die Differenzierung der Bakterienisolate erfolgte mittels kulturell-biochemischen und molekularbiologischen Methoden (Quinn et al., 1994). Lebernekrosen mit Verdacht auf eine Leptospireninfektion wurden mittels PCR (IVD GmbH Hannover) und bei Verdacht auf eine Mykobakterieninfektion ebenfalls mittels PCR (Kim et al., 2001) weitergehend untersucht. Der PPV-Nachweis wurde an Gewebekomogenisaten (Herz, Lunge, Leber, Niere) mittels Immunelektronenmikroskopie (IEM) und der PPV-Antikörper-Nachweis mittels indirekter Immunfluoreszenz (IIF) durchgeführt (Zanoni et al., 1984).

Der PCV2 Nachweis geschah mittels Immunhistochemie (IHC) an Paraffinschnitten mit Hilfe des monoklonalen Antikörpers F217 (McNeilly et al., 2001; Staebler et al., 2004). Für den Enteroviren-Nachweis wurde je ein Ferkel von 44 verschiedenen Mottersauen (27 Aborte und 17 Würfe mit vermehrt mumifizierten Ferkeln) ungeklärter Ursache der Fruchtbarkeitsstörungen ausgewählt. Das für die PPV-Diagnostik verwendete tiefgefrorene Gewebekomogenat wurde mittels PCR (Zell et al., 2000) von der Firma BioScreen (BioScreen European Veterinary Disease Management Center GmbH, Münster, Deutschland) auf porcine Teschoviren sowie porcine Enteroviren Typen 8, 9 und 10 untersucht. PCV2 Templates im EDTA-Blut der



Muttersauen wurden mittels einer SYBR Green Technik (pers. Mitteilung) quantitativ gemessen.

### **3.3 Serologische Untersuchungen**

Die Muttersauenserumproben wurden serologisch auf Antikörper gegen folgende Erreger untersucht: PCV2 mittels SERELISA® (SYNBIOTICS EUROPE SAS 2, Lyon, Frankreich); Aujeszky'sches Virus mittels Herdcheck® Anti-PRVgB (IDEXX Laboratories, Inc., IDEXX Switzerland, Liebefeld-Bern); PRRSV mittels HerdCheck® PRRS ELISA 2XR (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, ME, USA); Leptospiren mittels Micro-Agglutinationstest (MAT) (Serovare *L. grippotyphosa*, *L. australis*, *L. pomona*, *L. tarassovi*, *L. canicola*, *L. icterohaemorrhagiae* und *L. bataviae*) und Brucellen mittels dem Rose-Bengal-Test (RBT).

## **4. Ergebnisse**

Insgesamt wurden 286 Ferkel von 113 Muttersauen/Fällen (eine Muttersau repräsentiert einen Fall) aus 59 Betrieben untersucht. Das Untersuchungsmaterial stammte aus 12 verschiedenen Kantonen, wobei Gebiete mit einer hohen Schweinedichte (Luzern, Thurgau, St. Gallen und die Region Emmental im Kanton Bern) mit 44 Betrieben (74.4%) den Hauptteil der untersuchten Fälle darstellten. Bei den 113 Fällen handelte es sich um 42 Aborte sowie um 71 zeitgerechte Geburten mit mumifizierten, autolytischen, totgeborenen oder lebensschwachen Ferkeln (Tabelle 1).

Alle 113 Sauen waren serologisch negativ für PRRSV, PRV, *Brucella suis* und Leptospiren. Histologisch wurde an keinem der Ferkel eine Enzephalitis beobachtet. Bei den PCV2 IHC negativen Ferkeln konnte in keinem Fall eine Myokarditis diagnostiziert werden. Es lagen somit auch keine Hinweise einer Beteiligung von EMCV vor. Alle Plazenten waren mikroskopisch mittels Spezialfärbung negativ für Chlamydien und Brucellen.

In 33% konnte entweder eine infektiöse Ursache (Erregernachweis in 21% der Fälle) oder histologisch entzündliche Veränderungen ohne Erregernachweis (12% der Fälle) gefunden werden. In 63% der Fälle fanden sich keine Hinweise

auf ein infektiöses Geschehen und in 4% der untersuchten Fälle konnten Missbildungen und gestörter Geburtsverlauf gefunden werden (Tabelle 2).

Tabelle 1: Anzahl untersuchter Fälle unterteilt nach Aborte, zeitgerechten Geburten und Zustand der Ferkel

			<b>Total</b>
	42 Aborte	71 zeitgerechte Geburten	113 Fälle
	Anzahl untersuchter Ferkel		
Normal entwickelte Ferkel	91	73	164
Mumien	4	55	59
autolytische Ferkel	6	11	17
lebensschwache Ferkel	1	32	33
Frühaborte (<35. Trächtigkeitstag)	13		13
Total untersuchte Ferkel	115	171	286

Tabelle 2: Ätiologische Diagnosen

Ätiologie	Erreger	Anzahl Fälle	Prozent-satz
<b>Viral</b>	PCV2	5	4%
	PPV	3	3%
	Enteroviren/Teschoviren	5 <sup>a</sup>	11% <sup>a</sup>
<b>Bakteriell<sup>b</sup></b>	E. coli (6), Streptokokken (3), A. pyogenes (2), Klebsiellen (2), Enterokokken (1), Mykobakterien (Mycobacterium other than M.tuberculosis- complex (MOTT) (1), Leptospiren-Verdacht (Versilberung) (1)	16	14%
<b>Unbekannt, jedoch Hinweise für Infektion<sup>c</sup></b>		14	12%
<b>Missbildungen, gestörter Geburtsverlauf</b>		4	4%
<b>Keine Hinweise auf infektiöses Geschehen</b>		71	63%

<sup>a</sup> Untersuchung einer Stichprobe auf Enteroviren/Teschoviren aus 44 Würfen

<sup>b</sup> Erregerisolation inkl. histologische Entzündungsanzeichen wie Plazentitis und oder Pneumonie.

<sup>c</sup> Histologisch Entzündungsanzeichen wie Plazentitis und oder Pneumonie ohne Erregerisolation.

#### 4.1 Viral bedingte Fruchtbarkeitsstörungen

Virale Abortursachen, ohne Einbezug von PEV bzw. PTV, konnten mit 7% der Fälle selten festgestellt werden. Die 5 mittels IHC diagnostizierten PCV2 Fälle stammten von vier Jungsauen (3x 1. Wurf, 1x 2. Wurf) und einer Altsau (4. Wurf) aus vier verschiedenen Betrieben. In 3 Betrieben waren ausschliesslich Jungsauen (1. und 2. Wurf) und in einem Betrieb alle Altersklassen betroffen.

Die Muttersauen ferkelten alle zwischen dem 114. und 118. Trächtigkeitstag ab. In den betroffenen Würfen war insbesondere eine erhöhte Anzahl an mumifizierten Ferkeln zu verzeichnen (Tabelle 3). Die Muttertiere zeigten zum Zeitpunkt der Geburt keine klinischen Symptome. Keiner der Betriebe setzte eine PCV2-Mutterschutzimpfung ein. Alle fünf Sauen hatten hohe PCV2 Antikörpertiter jedoch konnten nur in 3 von 5 Muttersauen geringe Mengen von PCV2-DNA mittels PCR nachgewiesen werden (Tabelle 4). Anhand der SSL wurden die Todeszeitpunkte der Feten geschätzt. Kein Fötus starb vor dem 70. Trächtigkeitstag ab (Tabelle 4). Die mumifizierten oder stark autolytischen Gewebe konnten histologisch kaum mehr hinsichtlich entzündlicher Veränderungen beurteilt werden, da das Gewebe hochgradig ausgeblasst und die Zellkerne oft nicht mehr erkennbar waren. So konnten nur 2 der 14 untersuchten Herzen eine Entzündung und in 3 eine multifokale Fibrosierung zweifelsfrei diagnostiziert werden. Allerdings wiesen 12 Herzen gut sichtbare multifokale dystrophische Verkalkungen auf (Tabelle 5). Die PCV2-Antigenmengen in den verschiedenen fetalen Organen sind in Tabelle 6 zusammengestellt. Im Myokard waren immer mittel bis hochgradige Mengen von PCV2 Antigen vorhanden. Auch in anderen Organen, insbesondere Mesenteriallymphknoten, Thymus, Leber und Milz konnte PCV2 Antigen in sehr hohen Mengen nachgewiesen werden. Überdies traten mittelgradige und geringgradige Antigenmengen in diversen Feten in nahezu allen untersuchten Organen auf. Antigenbeladene Zellen waren oft intravaskulär auch in Plazenten und Gehirnen zu finden, aber auch als Einzelzellen oder Zellgruppen verteilt im Interstitium der Gewebe. Bei den intravaskulären PCV2 positiven Zellen handelte es sich wahrscheinlich um Monozyten/Makrophagen und bei den interstitiellen Zellen morphologisch um Histiozyten und dendritische Zellen. Myokardzellen und Hepatozyten waren meist stark infiziert, während stark infiziertes lymphatisches Gewebe diffus mit PCV2 positiven Zellen überflutet war. In den 3 untersuchten Thymi war das Mark stärker betroffen als die Rinde.

Tabelle 3: Wurfzusammensetzung der 5 PCV2-positiven Fälle

Sau	Wurf- zahl	Gesamtzahl Ferkel	Mumien	Tot- geburten	lebens- schwache Ferkel	Normale Ferkel
1	1	15	13	0	2	0
2	1	10	6	0	0	4
3	1	7	3	4	0	0
4	2	13	10	1	1	1
5	4	14	3	1	8	2

Tabelle 4: PCV2-Serologie und quantitativer PCR der Muttertiere im Vergleich zu den SSL (Todeszeitpunkte) der PCV2 positiven Ferkeln

Fall- Nr.	Anzahl Viren/ml EDTA-Blut	PCV2-IgG Titer	SSL der PCV2 positiven Feten (cm)	Todeszeitpunkt der Feten in Trächtigkeitstagen <sup>a</sup>
1	0	>20000	(M <sup>b</sup> /M) 20/21	83/86
2	0	>20000	(M/M/A) 17/21/29	74/86/111
3	1.5x10 <sup>5</sup>	7102	(M/A/A) 19/30/30	80/114/114
4	5x10 <sup>5</sup>	6232	(M/M/T) 24/29/29	95/111/111
5	10 <sup>5</sup>	4308	(M/M/T) 29/29/30	111/111/114

<sup>a</sup> Die Todeszeitpunkte wurden mit der Formel nach Almond et al. 2006 geschätzt:

$$\text{Alter} = 21.07 + 3.11 \times \text{SSL}$$

<sup>b</sup> M= Mumie; T= Totgeburt; A= Autolytisches Ferkel

Tabelle 5: Herzveränderungen der PCV2 positiven Fälle

	Mumien (n=9)			Nicht-Mumien (n=5)		
	ja	nein	n.b.	ja	nein	n.b.
Myokardverkalkung	8	1		4	1	
Myokardfibrose	2	7		1	4	
Myokarditis	2		7	1	2	2

n.b.: aufgrund Mumifikation oder starker Autolyse histologisch nicht beurteilbar.

Tabelle 6: Mittels Fluoreszenz in Situ Hybridisierung (FISH) ermittelte PCV2 Antigenmengen<sup>a</sup> in verschiedenen Organen der PCV2-IHC positiven Ferkel

Organ	PCV2-Antigenmenge			
	+++	++	+	-
<b>Herz (n=14)</b>	12	2	0	0
<b>Leber (n=12)</b>	4	5	3	0
<b>Lymphknoten (n=10)</b>	10	0	0	0
<b>Milz (n=10)</b>	2	7	1	0
<b>Thymus (n=3)</b>	3	0	0	0
<b>Lunge (n=12)</b>	0	7	4	1
<b>Niere (n=12)</b>	1	2	8	1
<b>Nabel (n=10)</b>	0	3	6	1
<b>Plazenta (n=8)</b>	0	3	4	1
<b>Gehirn (n=13)</b>	0	1	7	5

<sup>a</sup>(+++)  
hochgradige, (++) mittelgradige, (+) geringgradige, (-) negative Antigenmengen.

PPV konnte in 4 Mumien aus 3 Würfen (1. 3. und 7. Wurf) in 2 Beständen nachgewiesen werden. Im ersten Betrieb wurden die Muttersauen nach gängigem Schema gegen PPV geimpft. Der betroffene Wurf bestand aus 2 Mumien, 2 Totgeburten und 10 lebensfähigen Ferkeln. PPV konnte nur in der untersuchten Mumie (SSL 11cm) nachgewiesen werden, nicht jedoch in den zwei untersuchten Totgeburten, die serologisch negativ für PPV waren. Im zweiten Betrieb wurde keine PPV-Impfung eingesetzt. Die beiden betroffenen Würfe bestanden hauptsächlich aus verschiedenen grossen Mumien, aber auch aus lebensschwachen und normalen, lebensfähigen Ferkeln.

RNA von PEV bzw. PTV konnte in 5 von 44 untersuchten Fällen mit ungeklärter Ätiologie der Fruchtbarkeitsstörungen isoliert werden. Aus Würfen mit Mumien konnte 1x PTV und 2x PEV Typ 9 oder 10 nachgewiesen werden. PEV Typ 9 oder 10 wurde zudem auch in zwei Spätaborten ohne Mumien diagnostiziert. Die Muttersauen waren in allen Fällen ohne klinische Symptome.

## **4.2 Bakteriell bedingte Fruchtbarkeitsstörungen**

In 14% der Fälle konnten bakterielle Erreger zusammen mit entzündlichen Veränderungen in Plazenten und oder in den fetalen Organen nachgewiesen werden. Die Häufigkeiten der jeweils nachgewiesenen Erreger ist aus Tabelle 2 ersichtlich.

Mykobakterien wurden aus 2 Totgeburten isoliert, die aus einem Wurf am 116. Trächtigkeitstag mit insgesamt 4 Totgeburten stammten. Histologisch konnte in beiden Ferkeln eine hochgradige multifokal-konfluierende nekrotisierende Plazentitis und eine mittelgradige multifokale kleinherdförmige granulomatöse Hepatitis jeweils mit Nachweis von massenhaft säurefesten Stäbchen nachgewiesen werden. Mittels PCR und nachfolgendem Restriktionsverdau konnten in den Proben Mykobakterien, die nicht zum *M. tuberculosis* Komplex gehören, nachgewiesen werden. Der Leptospirenverdachtsfall stammt von einem primiparen Muttertier, das am 98. Trächtigkeitstag ohne weitere klinische Symptomatik abortierte. In 2 von 3 untersuchten Ferkeln war die Leber makroskopisch mit 0.5-1cm grossen weiss-grauen Flecken übersät. Histologisch handelte es sich dabei um eine mittelgradige multifokale eitrig-nekrotisierende Hepatitis. Leichtgradige entzündliche Veränderungen fanden sich auch in Lunge und Plazenta. Mittels Versilberung (W+S) waren histologisch Leptospiren-ähnliche Erreger am Rand der Lebernekrosen auffindbar. Die durchgeführte PCR zum Nachweis von Leptospiren fiel jedoch negativ aus. Der Leptospiren-Antikörpertiter des Muttertieres lag für *L. grippotyphosa* bei 1:100.

## **5. Diskussion**

Prävalenzangaben über PCV2-bedingte Fruchtbarkeitsstörungen variieren weltweit beachtlich. Allerdings variieren Nachweismethode und Sensitivität der angewandten Methoden stark. In einer amerikanischen Arbeit konnte PCV2 mittels PCR in keiner (Bogdan et al., 2001), in Spanien mittels PCR und in situ Hybridisierung in 1% (Maldonado et al., 2005; Segalés et al., 2002) und in Brasilien mit PCR und IHC in 5.7% (Pescador et al., 2007) der untersuchten Proben gefunden werden. Im Gegensatz dazu ergaben PCR-Untersuchungen aus Österreich eine PCV2-Prävalenz von 20.5% (Dastig et al., 2003) und aus Deutschland 27.1% (Ritzmann et al., 2005). In der Mitte liegt eine mittels PCR

ermittelte Häufigkeit von 13.1% aus Korea (Kim et al., 2004). In unserer Arbeit konnte mittels IHC eine Prävalenz von 4% ermittelt werden. Die Mehrheit der IHC-positiven Ferkel waren Mumien, von denen die meisten dystrophische Myokardverkalkungen aufwiesen. Um die Diagnose PCV2-assoziierte Fruchtbarkeitsstörungen stellen zu können müssen gemäss Segalés et al., (2006) drei Kriterien erfüllt sein: (I) klinische Symptomatik mit vermehrt Aborten und/oder Mumien und Totgeburten, (II) Myokardveränderungen (Fibrosen/Degeneration und/oder Entzündung) und (III) PCV2-Nachweis in den Läsionen. Die in dieser Arbeit erfassten Fälle erfüllen alle 3 Kriterien, wobei eine Myokarditis infolge des schlechten Zustandes der mumifizierten Gewebe oft kaum erkennbar war. Hingegen konnten Myokarddegeneration in Form dystrophischer Verkalkungen bei PCV2 bedingtem Fruchttod häufig beobachtet werden und waren auch im mumifizierten oder autolytischen Geweben noch gut erkennbar. Während andere Autoren PCV2 mittels IHC, PCR oder Virusisolation auch in abortierten Feten finden konnten (Meehan et al., 2001, Josephson und Charbonneau 2001), wurde PCV2 Antigen in unserem Untersuchungsmaterial mittels IHC nur in Mumien und einer Totgeburt nachgewiesen. Die Klinik entsprach den PPV- bedingten Fruchtbarkeitsstörungen mit Vorhandensein von Mumien, aber auch lebensschwachen und sich normal entwickelnden Ferkeln. In unseren Untersuchungen waren ebenfalls, wie in der Literatur beschrieben, vor allem Erstlingsauen und Jungsauen von PCV2-bedingten Fruchtbarkeitsstörungen betroffen. Gefährdet sind Betriebe mit einem hohen Jungsauenanteil wie zum Beispiel bei neu aufgebauten Sauenherden oder ein Wechsel des Jungsauenlieferanten (Brunborg et al., 2007; Josephson und Charbonneau, 2001; Kim et al., 2004; Ladekjaer-Mikkelsen et al., 2001; O'Connor et al., 2001; Pittman, 2008; Sanford, 2002; West et al., 1999). Die Tatsache, dass vor allem Jungsauen betroffen sind, kann mit einer mangelnden Immunität der Jungsauen wegen ungenügender Akklimatisation an den neuen Standort erklärt werden. Im vorliegenden Untersuchungsmaterial konnten bei einer Stichprobe mittels PCR im Thymus auch bei IHC negativen Ferkeln PCV2 nachgewiesen werden. Nicht jede intrauterine PCV2 Infektion führt demnach zwingend zu Fruchtbarkeitsstörungen. Auch andere Autoren fanden in präkolostralen Blutproben bei rund 20% der normalen, lebensfähigen Ferkeln mittels PCR



geringe Mengen an PCV2 (Baker et al., 2011). In einer weiteren Untersuchung konnte in präkolostralen Blutproben von gesunden Neonaten in 21.4% IgG gegen PCV2 und in 39.9% PCV2-DNA nachweisen werden (Shen et al., 2010). Eine latente vertikale Infektion ist möglicherweise häufiger als bis anhin vermutet und könnte mit eine Erklärung für die weite Verbreitung von PCV2 sein. Die Häufigkeit und Bedeutung latenter intrauteriner Infektionen mit PCV2 muss weiter abgeklärt werden.

PPV wurde mit 3% aller Fälle viel seltener nachgewiesen als dies noch in früheren Untersuchungen der Fall war. Der markante Rückgang im Vergleich zu früheren Angaben von Zanoni et al. 1984 (48%) und Broll et al. 1993 (29%) kann mit der nahezu flächendeckend eingesetzten PPV-Impfung erklärt werden. Bis anhin wurde unseres Wissens in der Schweiz bei Fruchtbarkeitsstörungen noch nie auf PEV bzw. PTV untersucht. Die gefundenen 5 Fälle aus einer Stichprobe von 44 ätiologisch nicht geklärten Fällen mit Fruchtbarkeitsstörungen mit vermehrten Mumien ergeben eine Prävalenz von 11.3% PEV/PTV. Allerdings ist nicht klar, ob die nachgewiesenen Serotypen auch an den Fruchtbarkeitsstörungen ursächlich beteiligt sind. In einer amerikanischen Untersuchung (Kirkbride und McAdaragh 1978) war PEV mit 11% die am häufigsten gefundene infektiöse Ursache für Fruchtbarkeitsstörungen beim Schwein. In unserem Untersuchungsmaterial konnte in 4 der 5 Fälle PEV 9 und 10 nachgewiesen werden. Diese Serotypen wurden bis jetzt nur in Italien, Grossbritannien und Japan beschrieben (Caracappa et al., 1985; Honda et al., 1990; Knowles et al., 1979; Zoletto, 1965). Sie werden aber in der Literatur nicht mit Fruchtbarkeitsstörungen, sondern mit Hautläsionen in Zusammenhang gebracht (Knowles et al., 1979). Eine systematische Untersuchung von Fruchtbarkeitsproblemen auf PEV/PTV drängt sich auf.

Bei den bakteriellen Infektionen hat sich die Situation im Vergleich zu früheren Untersuchungen nicht verändert. Fakultativ pathogene Keime, wie E. coli und Streptokokken, stehen im Vordergrund. Brucellen konnten nicht nachgewiesen werden und Leptospiren spielen im Gegensatz zu ausländischen Untersuchungen (Kirkbride und McAdaragh 1978; Dastig et al., 2003) in der Schweiz bei Fruchtbarkeitsproblemen kaum eine Rolle. In dieser Untersuchung standen häufig auch Plazenten zu Verfügung. Trotzdem konnten im

mikroskopischen Ausstrich keine Chlamydien nachgewiesen werden. Weitergehende Untersuchungen des Materials auf Chlamydien oder Toxoplasmen mit IHC, PCR oder ELISA bleiben nachfolgenden Arbeiten vorbehalten.

## **6. Literatur**

Almond G.W., Flowers W.L., Batista L., D'Allaire S.: Diseases of the reproductive system. In: Diseases of swine. Hrsg. Straw, Zimmermann, D'Allaire and Taylor, Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA, 2006, 113-147.

Baker N., Galina L., J., B.: Evaluating the incidence of pig viremia, antibody response and virus in colostrum of different parity sows from five farms using PCV2 vaccine. Proc 42th ASSV Congress Phoenix, 2011, 216.

Bielanski A. und Raeside J.I.: Plasma concentrations of steroid hormones in sows infected experimentally with *Leptospira pomona* or porcine enterovirus strain T1 in late gestation. Res Vet Sci 1977, 22:28-34.

Bogdan J., West K., Clark E., Konoby C., Haines D., Allan G., McNeilly F., Meehan B., Krakowka S., Ellis J.A.: Association of porcine circovirus 2 with reproductive failure in pigs: a retrospective study, 1995-1998. Can Vet J 2001, 42:548-550.

Broll S., Waldvogel A.S., Roskopf M., Corboz L, Pospischil A.: The infectious causes of abortion and stillbirth in swine in Switzerland. Zentralbl Veterinarmed B 1993, 40:641-653.

Brunborg I.M., Jonassen C.M., Moldal T., Bratberg B., Lium B., Koenen F., Schonheit J.: Association of myocarditis with high viral load of porcine circovirus type 2 in several tissues in cases of fetal death and high mortality in piglets. A case study. J Vet Diagn Invest 2007, 19:368-375.

Brunner D., Henn V., Hasler J.: Parvovirus infections detected in swine in the years 1985/86. Schweiz Arch Tierheilk 1987, 129:259-263.

Caracappa S., Vesco G., Iannizzotto G., Guercio V., Knowles N.J.: Isolamento ed identificazione di enterovirus suini in Sicilia. Arch Vet Ital 1985, 36:167-170.

Dastig B., Schmoll F., Lang C., Irgang P., Spergser M.J., Schuh M., Sipos W.: Detection of pathogens in aborted fetuses and stillborn piglets. 4th International Symposium on Emerging and Re-emerging Pig Diseases Rome, 2003, 88.

Dunne H.W., Gobble J.L., Hokanson J.F., Kradel D.C., Bubash G.R.: Porcine reproductive failure associated with a newly identified "SMEDI" group of picorna viruses. Am J Vet Res 1965, 26:1284-1297.

Honda E., Kimata A., Hattori I., Kumagai T., Tsuda T., Tokui T.: A serological comparison of 4 Japanese isolates of porcine enteroviruses with the international reference strains. Nippon Juigaku Zasshi 1990, 52:49-54.

Josephson G. und Charbonneau G.: Case report of reproductive problems in a new startup operation. J Swine Health Prod 2001, 9:258-259.

Kaku Y., Sarai A., Murakami Y.: Genetic reclassification of porcine enterovirus. J Gen Virol 2001, 82:417-424.

Kim B.J., Lee K.H., Park B.N., Kim S.J., Bai G.H., Kim S.J., Kook Y.H.: Differentiation of Mycobacterial Species by PCR-Restriction Analysis of DNA (342 Base Pairs) of the RNA Polymerase Gene (*rpoB*). J Clin Microb 2001, 39: 2102-2109.

Kim J., Jung K., Chae C.: Prevalence of porcine circovirus type 2 in aborted fetuses and stillborn piglets. Vet Rec 2004, 155:489-492.

Kirkbride C.A. und McAdaragh J.P.: Infectious agents associated with fetal and early neonatal death and abortion in swine. J Am Vet Med Assoc 1978, 172:480-483.

Knowles N.J.: Porcine enteric picornaviruses. In: Diseases of swine 9th Edition. Hrsg. Straw, Zimmermann, D'Allaire and Taylor, Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA, 2006, 337-345.

Knowles N.J., Buckley L.S., Pereira H.G.: Classification of porcine enteroviruses by antigenic analysis and cytopathic effects in tissue culture: description of 3 new serotypes. Arch Virol 1979, 62:201-208.

Ladekjaer-Mikkelsen A.S., Nielsen J., Storgaard T., Botner A., Allan G., McNeilly F.: Transplacental infection with PCV-2 associated with reproductive failure in a gilt. Vet Rec 2001, 148:759-760.

Maldonado J., Segalés J., Martínez-Puig D., Calsamiglia M., Riera P., Domingo M., Artigas C.: Identification of viral pathogens in aborted fetuses and stillborn piglets from cases of swine reproductive failure in Spain. Vet J 2005, 169:454-460.

McNeilly F., McNair I., Mackie D.P., Meehan B.M., Kennedy S., Moffett D., Ellis J., Krakowka S., Allan G.M.: Production, characterisation and applications of monoclonal antibodies to porcine circovirus 2. Arch Virol 2001, 146:909-922.

Meehan B.M., McNeilly F., McNair I., Walker I., Ellis J.A., Krakowka S., Allan G.M.: Isolation and characterization of porcine circovirus 2 from cases of sow abortion and porcine dermatitis and nephropathy syndrome. Arch Virol 2001, 146:835-842.

Mikami O., Nakajima H., Kawashima K., Yoshii M., Nakajima Y.: Nonsuppurative myocarditis caused by porcine circovirus type 2 in a weak-born piglet. J Vet Med Sci 2005, 67:735-738.

O'Connor B., Gauvreau H., West K., Bogdan J., Ayroud M., Clark E.G., Konoby C., Allan G., Ellis J.A.: Multiple porcine circovirus 2-associated abortions and reproductive failure in a multisite swine production unit. *Can Vet J* 2001, 42:551-553.

Opriessnig T., Meng X.J., Halbur P.G.: Porcine circovirus type 2 associated disease: update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention strategies. *J Vet Diagn Invest* 2007, 19:591-615.

Pescador C., Bandarra P.M., Castro L.A., Antoniassi A.B., Ravazzolo A.P., Sonne L., Cruz E.F., Driemeier D.: Co-infection by porcine circovirus type 2 and porcine parvovirus in aborted fetuses and stillborn piglets in southern Brazil. *Pes Vet Bras* 2007, 27:425-429.

Pittman J.S.: Reproductive failure associated with porcine circovirus type 2 in gilts. *J Swine Health Prod* 2008, 16:144-148.

Pospischil A., Thoma R., Sydler T.: Bakteriell bedingte Aborte beim Schwein. *Praktische Tierarzt* 2002, 83:274-280.

Quinn P.J., Carter M.E., Markey B., Carter G.R.: Clinical Veterinary Microbiology. In: Hrsg. Wolfe Publishing, Dublin, 1994, 21-66, 118.

Ritzmann M., Wilhelm S., Zimmermann P., Etschmann B., Bogner K.H., Selbitz H.J., Heinritzi K., Truyen U.: Prevalence and association of porcine circovirus type 2 (PCV2), porcine parvovirus (PPV) and porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in aborted fetuses, mummified fetuses, stillborn and nonviable neonatal piglets. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 2005, 112:348-351.

Sanford S.E.: PCV-2 related reproductive failure in startup herds. 17th IPVS-Congress Iowa, USA, 2002, 171.

Schwermer, H., Sievi, M.: In Jahresbericht Seuchenfreiheit 2010. [www.bvet.admin.ch/Dokumentation/Publikation/Berichte](http://www.bvet.admin.ch/Dokumentation/Publikation/Berichte).

Segalés J., Allan G.M., Domingo M.: Porcine circovirus diseases. In: Diseases of swine. Hrsg. Straw, Zimmermann, D'Allaire and Taylor, Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA, 2006, 299-307.

Segalés J., Rosell C., Domingo M.: Reproductive failure associated to porcine circovirus type 2 infection in Spain? 17th IPVS-Congress Iowa, USA, 2002, 1:171.

Shen H., Wang C., Madson D.M., Opriessnig T.: High prevalence of porcine circovirus viremia in newborn piglets in five clinically normal swine breeding herds in North America. *Prev Vet Med* 2010, 97:228-236.

Staebler S., Buergi E., Litzenberger B., McCullough K., McNair I., McNeilly F., Pospischil A., Sydler T.: Porcine circovirus as a possible cause of postweaning wasting in pigs in Switzerland. *Schweiz Arch Tierheilk* 2004, 146:461-468.

Sydler T., Brugnera E., Weilenmann R., Zimmermann D., Engels M., Sidler X.: Erste diagnostizierte PCV2-bedingte "SMEDI-Fälle" in der Schweiz. *Tierärztl Prax* 2011, 39G:231-236.

Thoma R., Guscelli F., Schiller I., Schmeer N., Corboz L., Pospischil A.: Chlamydiae in porcine abortion. *Vet Pathol* 1997, 34:467-469.

West K.H., Bystrom J.M., Wojnarowicz C., Shantz N., Jacobson M., Allan G.M., Haines D.M., Clark E.G., Krakowka S., McNeilly F., Konoby C., Martin K., Ellis J.A.: Myocarditis and abortion associated with intrauterine infection of sows with porcine circovirus 2. *J Vet Diagn Invest* 1999, 11:530-532.

Wiederkehr D.D., Sydler T., Buergi E., Haessig M., Zimmermann D., Pospischil A., Brugnera E., Sidler X.: A new emerging genotype subgroup within PCV-2b dominates the PMWS epizooty in Switzerland. *Vet Microbiol* 2009, 136:27-35.

Woods A.L., McDowell E.J., Holtkamp D., Pogranichniy R.M., Gillespie T.G.: Reproductive failure associated with porcine parvovirus and possible porcine circovirus type 2 co-infection. J Swine Health Prod 2009, 17:210-216.

Zanoni R.G., Henn V., Rutishauser U.P., Wyler R.: Häufigkeit der porcinen Parvovirusinfektion in der Schweiz und ein neuer Virusnachweis mittels Immunelektronenmikroskopie. Zentralbl Veterinarmed B 1984, 31:729-742.

Zell R., Krumbholz A., Birch-Hirschfeld E., Stelzner A., Doherty :, Hoey E., Dauber M., Prager D.: Detection of porcine enteroviruses by nRT-PCR differentiation of CPE groups I-III with specific primer sets. J Virol Methods 2000, 88:205-218.

Zoletto R.: Caratteristiche differenziali degli enterovirus suini. Veterinaria italiana 1965, 16:3-20.

## **Danksagung**

Herzlichen Dank an

- Xaver Sidler für die Möglichkeit der Erstellung einer Dissertation,
- Titus Sydler für seinen unermüdlichen Einsatz und seine sehr hilfreichen Inputs,
- PD Dr. N. Borel und PD Dr. F. Janett für die Übernahme des Referates beziehungsweise Koreferates,
- Frau Roseline Weilenmann, Frau Eliane Steiner, Frau Belinda Senn und Frau Rita Castro für die schnelle und präzise Arbeit im Labor,
- allen Landwirten, die uns für diese Arbeit Probenmaterial zur Verfügung gestellt haben und Einblick in ihre Aufzeichnungen gewähren liessen,
- die Vermarktungsorganisationen AG für SPF- Tiere, Sursee; Anicom AG, Wil; Hügi Anton, Nebikon; IGA Sursee; Käser Bruno, Walterswil; Künzler M.+F., Richterswil; Lüscher Gebr., Muhen; Müller Fredy, Schlierbach; Linus Silvestri AG, Lüchingen; Phanta Porc, Schenkon; Prosus Weinfelden; Qualiporc AG, Appenzell; Roth Gebr., Entlebuch; Zemp Paul, Ruswil für die finanzielle Unterstützung,
- Suisseporcs für die Bekanntmachung des Projektes in ihrem Informationsbulletin.